

## Composite polymeric material for biological and medical applications and the method for its preparation

Patent Number: ☐ US4427808

Publication date: 1984-01-24

Inventor(s): CEFELIN PAVEL (CS); STOL MIROSLAV (CS); ADAM MILAN (CS); KALAL JAROSLAV (CS); TOLAR MIROSLAV (CS)

Applicant(s): CESKOSLOVENSKA AKADEMIE VED (CS)

Requested Patent: ☐ DE3128815

Application Number: US19810283424 19810715

Priority Number (s): CS19800005125 19800721

IPC Classification:

EC Classification: A61L15/22M, A61L27/26, A61L33/00H2, C12N5/00S, C08L33/08

Equivalents: CS216992, ☐ FR2493328, ☐ GB2080814, JP1359004C, ☐ JP57052460, JP61022586B, ☐ US4563490

### Abstract

The invention relates to a composite polymeric material suitable for biological and medical applications and to the method for preparation thereof. The composite material consists of 1-99 wt. % of hydrophilic polymer or copolymer based on methacrylic or acrylic esters, 1-99 wt. % of fibrillar collagen, and up to 2.5 wt. % of a crosslinking agent, based on both polymeric components. The composite material may further comprise biologically active compounds and other auxiliary materials, as fillers and/or plasticizers. The composite material is prepared by dispersing the fibrillar collagen in a solution or a highly swollen dispersion of the synthetic hydrophilic polymer or copolymer in a lyotropic agent and the subsequent removal of the lyotropic agent, thus forming a matrix of the synthetic polymer or copolymer penetrated by fibrillar collagen or vice versa. The composite material may be applied on a solid support or reinforced with glass, plastics, cellulose, or metallic materials. A method for the preparation of the composite material consists in dispersing of fibrillar collagen in a solution or a highly swollen dispersion of the synthetic hydrophilic polymer or copolymer in a lyotropic agent, e.g. in water diluted carboxylic acids, strongly acidified aqueous mixtures of ethanol and methanol, high-concentrated aqueous solutions of lyotropic salts, and high-concentrated aqueous solutions of urea or guanidinium chloride, at temperature not exceeding 37 DEG C., and the subsequent removing of the lyotropic agent from the viscous dispersion at temperature not exceeding 37 DEG C. using the known methods. The crosslinking agent, e.g. trimethylolurea, formaldehyde, acetaldehyde, glutaraldehyde, starch dialdehyde, glyoxal, or Cr(III) salts, may be added in the course of preparation of the dispersion or after removal of the lyotropic agent.

Data supplied from the esp@cenet database - I2



DEUTSCHES  
PATENTAMT

- 21 Aktenzeichen:  
22 Anmeldetag:  
43 Offenlegungstag:

P 31 28 815.4  
21. 7. 81  
9. 6. 82

51 Int. Cl. 3:  
C 08 L 89/00  
C 08 L 33/04  
C 08 J 3/06  
B 32 B 27/18  
A 61 L 15/00  
A 61 F 1/00

Beinördeneigentum

- 30 Unionspriorität: 32 33 31  
21.07.80 CS 5125-80

- 71 Anmelder:  
Československá akademie věd, Praha, CS

- 74 Vertreter:  
Beetz sen., R., Dipl.-Ing.; Beetz jun., R., Dipl.-Ing. Dr.-Ing.;  
Timpe, W., Dr.-Ing.; Siegfried, J., Dipl.-Ing.;  
Schmitt-Fumian, W., Privatdozent, Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.,  
Pat.-Anw., 8000 München

- 72 Erfinder:  
Štol, Miroslav, Dipl.-Ing.; Tolar, Miroslav, Dr.; Adam, Milan,  
Dr.; Kalal, Jaroslav; Prof.-Ing. Dr., Praha; CS

54 Polymeres Verbundmaterial, seine Herstellung und Verwendung

Die Erfindung betrifft ein polymeres Verbundmaterial für biologische und medizinische Zwecke, insbesondere zur Herstellung von Implantaten und Verbandmaterialien, sowie ein Verfahren zu seiner Herstellung. Das erfindungsgemäße Verbundmaterial besteht aus 1 bis 99 Gew.-% eines hydrophilen Polymers oder Copolymers, insbesondere auf der Basis eines Acrylats oder Methacrylats, 1 bis 99 Gew.-% fibrillärem Kollagen und 0 bis 2,5 Gew.-% eines Vernetzungsmittels, bezogen auf das Trockengewicht der beiden Polymerkomponenten. Das erfindungsgemäße polymere Verbundmaterial kann ferner gegebenenfalls biologisch aktive Substanzen und Hilfsstoffe wie Weichmacher, Füllstoffe u.dgl. enthalten. Das erfindungsgemäße polymere Verbundmaterial wird durch Dispergieren von fibrillärem Kollagen in einer Lösung oder einer stark gequollenen Dispersion eines synthetischen hydrophilen Polymers oder Copolymers in einem lyotropen Reagens und anschließende Abtrennung des lyotropen Reagens hergestellt, wobei eine Matrix des synthetischen Polymers oder Copolymers, die von fibrillärem Kollagen durchsetzt ist, oder umgekehrt eine Matrix von fibrillärem Kollagen, das von synthetischem Polymer bzw. Copolymer durchsetzt ist, entsteht. Das erfindungsgemäße polymere Verbundmaterial kann auf eine feste Unterlage aufgetragen oder durch feste Materialien wie Glas, Kunststoffe, Cellulose und/oder Metalle armiert verwendet werden.

(31 28 815)

DE 3128815 A1

DE 3128815 A1

BEETZ-LAMPRECHT-BEETZ  
Steinsdorfstr. 10 · D-8000 München 22  
Telefon (089) 22 72 01 - 22 72 44 - 29 59 10  
Telex 522048 - Telegramm Allpatent München

Patentanwälte  
Zugelassene Vertreter beim Europäischen Patentamt  
Dipl.-Ing. R. BEETZ sen.  
Dipl.-Ing. K. LAMPRECHT  
Dr.-Ing. R. BEETZ jr.  
Rechtsanwalt Dipl.-Phys. Dr. Jur. U. HEIDRICH  
Dr.-Ing. W. TIMPE  
Dipl.-Ing. J. SIEGFRIED  
Priv.-Doz. Dipl.-Chem. Dr. rer. nat. W. SCHMITT-FUMIAN

21.7.1981

233-32.656P

### A n s p r ü c h e

1. Polymeres Verbundmaterial,

erhältlich durch

(a) Dispergieren von fibrillärem Kollagen in einer Lösung oder einer stark gequollenen Dispersion eines synthetischen hydrophilen Polymers oder Copolymers in einem lyotropen Lösungsmittel unter Rühren bei Temperaturen  $\leq 37^{\circ}\text{C}$

und

(b) Abtrennen des lyotropen Lösungsmittels aus der viskosen Dispersion bei Temperaturen  $\leq 37^{\circ}\text{C}$ .

2. Polymeres Verbundmaterial nach Anspruch 1,

erhältlich unter Verwendung von wäßrigen Carbonsäurelösungen, stark sauren Gemischen von Äthanol und Methanol und/oder hochkonzentrierten Lösungen von Harnstoff oder Guanidin als lyotropen Lösungsmitteln.

3. Polymeres Verbundmaterial nach Anspruch 1 oder 2,

erhältlich durch Zusatz eines Vernetzungsmittels in Schritt (a) oder nach Schritt (b).

233-S9928-SF-Bk

4. Polymeres Verbundmaterial nach Anspruch 3,  
erhältlich unter Verwendung von Trimethylolharnstoff, Formaldehyd, Acetaldehyd, Glutaraldehyd, Dialdehydstärke, Glyoxal und/oder eines Chrom(III)salzes als Vernetzungsmittel in einer Menge von  $\leq 2,5$  Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht des synthetischen Polymers oder Copolymers und des Kollagens.
5. Polymeres Verbundmaterial nach einem der Ansprüche 1 bis 4,  
erhältlich durch Zugabe einer biologisch aktiven Substanz und gegebenenfalls eines Füllstoffs und/oder Weichmachers in Schritt (a) oder nach Schritt (b).
6. Polymeres Verbundmaterial nach einem der Ansprüche 1 bis 5,  
gekennzeichnet durch  
1 bis 99 Gew.-% hydrophiles Polymer oder Copolymer,  
1 bis 99 Gew.-% fibrilläres Kollagen und  
0 bis 2,5 Gew.-% Vernetzungsmittel, bezogen auf  
das Gesamtgewicht des Polymers oder  
Copolymers und des Kollagens,  
und gegebenenfalls <sup>oder mehrere</sup> eine biologisch aktive Substanzen  
und/oder Hilfsstoffe wie Weichmacher und Füllstoffe.
7. Polymeres Verbundmaterial nach einem der Ansprüche 1 bis 6,  
gekennzeichnet durch ein hydrophiles Polymer oder Copolymer auf der Basis eines Acrylats oder Methacrylats.

8. Polymeres Verbundmaterial nach einem der Ansprüche 1 bis 7,  
gekennzeichnet durch eine feste Unterlage aus Glas, Kunststoff, Cellulose und/oder Metall.
9. Polymeres Verbundmaterial nach einem der Ansprüche 1 bis 7,  
gekennzeichnet durch eine Bewehrung aus Glas, Kunststoff, Cellulose und/oder Metall.
10. Verfahren zur Herstellung des polymeren Verbundmaterials nach einem der Ansprüche 1 bis 9, gekennzeichnet durch
  - (a) Dispergieren von fibrillärem Kollagen in einer Lösung oder einer stark gequollenen Dispersion eines synthetischen hydrophilen Polymers oder Copolymers in einem lyotropen Lösungsmittel unter Rühren bei Temperaturen  $\leq 37^{\circ}\text{C}$  und
  - (b) Abtrennen des lyotropen Lösungsmittels aus der viskosen Dispersion bei Temperaturen  $\leq 37^{\circ}\text{C}$ .
11. Verfahren nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß wäßrige Carbonsäurelösungen, stark saure Gemische von Äthanol und Methanol und/oder hochkonzentrierte Lösungen von Harnstoff oder Guanidin als lyotrope Lösungsmittel verwendet werden.
12. Verfahren nach Anspruch 10 oder 11, dadurch gekennzeichnet, daß in Schritt (a) oder nach Schritt (b) ein Vernetzungsmittel verwendet wird.

13. Verfahren nach einem der Ansprüche 10 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß als Vernetzungsmittel Trimethylolharnstoff, Formaldehyd, Acetaldehyd, Glutaraldehyd, Dialdehydstärke, Glyoxal und/oder ein Chrom(III)salz verwendet werden.
14. Verfahren nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß das Vernetzungsmittel in einer Menge von  $\leq 2,5$  Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht des synthetischen Polymers oder Copolymers und des Kollagens, eingesetzt wird.
15. Verfahren nach einem der Ansprüche 10 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß in Schritt (a) oder nach Schritt (b) <sup>oder mehrere</sup> eine/biologisch aktive Substanzen und gegebenenfalls ein Füllstoff und/oder ein Weichmacher zugesetzt werden.
16. Verfahren nach einem der Ansprüche 10 bis 15, dadurch gekennzeichnet, daß 1 bis 99 Gew.-% hydrophiles Polymer oder Copolymer, 1 bis 99 Gew.-% fibrilläres Kollagen und 0 bis 2,5 Gew.-% Vernetzungsmittel, bezogen auf das Gesamtgewicht des Polymers oder Copolymers und des Kollagens, sowie gegebenenfalls eine <sup>oder mehrere</sup> biologisch aktive Substanzen und/oder Hilfsstoffe wie Weichmacher und Füllstoffe verwendet werden.
17. Verfahren nach einem der Ansprüche 10 bis 16, dadurch gekennzeichnet, daß ein hydrophiles Polymer oder Copolymer auf der Basis eines Acrylats oder Methacrylats verwendet wird.

18. Verfahren nach einem der Ansprüche 10 bis 17, dadurch gekennzeichnet, daß das polymere Verbundmaterial auf eine feste Unterlage aus Glas, Kunststoff, Cellulose und/oder Metall aufgebracht wird.
19. Verfahren nach einem der Ansprüche 10 bis 17, dadurch gekennzeichnet, daß das polymere Verbundmaterial mit Glas, Kunststoff, Cellulose und/oder Metall bewehrt wird.
20. Verwendung des polymeren Verbundmaterials nach einem der Ansprüche 1 bis 9 als Implantatmaterial in der Human- und Veterinärmedizin.
21. Verwendung des polymeren Verbundmaterials nach einem der Ansprüche 1 bis 9 als Unterlage für Zell- oder Gewebekulturen.
22. Verwendung des polymeren Verbundmaterials nach einem der Ansprüche 1 bis 9 als Verbandmaterial und Abdeckmaterial für Brandwunden.

Ceskoslovenská akademie věd, Prag 1 / CSSR

---

Polymeres Verbundmaterial, seine Herstellung  
und Verwendung

Die Erfindung betrifft ein polymeres Verbundmaterial, das sich vorteilhaft für biologische und medizinische Zwecke, insbesondere als Implantatmaterial sowie etwa als Substratmaterial für Zell- oder Gewebekulturen, eignet, sowie seine Herstellung.

Es ist bereits ein Verfahren zur Herstellung von Ersatzmaterialien für Organe und Gewebe auf der Basis eines Verbundmaterials bekannt, dessen eine Komponente ein dreidimensional vernetztes synthetisches hydrophiles Polymer von 2-Hydroxyäthylmethacrylat <sup>und</sup> gegebenenfalls einem Monomethacrylat höherer homologer Glycole, <sup>dessen</sup> und / andere Komponente Kollagen darstellt. Bei diesem

233-S9928-SF-Bk



Verfahren wird ein Gel mit offenen Poren von über 100  $\mu\text{m}$  Größe hergestellt, wobei diese Poren während der Polymerisation oder nach dem Abbruch der Polymerisation wenigstens teilweise ausgefüllt werden. Das entstandene Verbundmaterial besteht aus dem unlöslichen räumlichen Netzwerk des Gels mit einer Porosität von 100 bis 400  $\mu\text{m}$  Durchmesser, bei dem die miteinander in Verbindung stehenden Poren mit Kollagen ausgefüllt sind, das so modifiziert ist, daß nach der Implantation des Materials in einen lebenden Organismus eine geregelte Resorption erzielt wird.

Einige biologische Eigenschaften dieses Verbundmaterials sind von M. Chvapil et al., J. Biomed. Mater. Res. 3 (1969) 315, beschrieben.

Der Nachteil dieser bekannten Verfahrensweise liegt in der resultierenden Form des Produkts, das als voluminöser Block oder ein ähnliches räumliches Gebilde, zB als starkwandige Röhre, erhalten wird. Eine anschließende Formänderung des Produkts ist nur durch schwierige mechanische Bearbeitung möglich, die zumeist in gefrorenem Zustand vorgenommen wird, in dem das Material die nötige Festigkeit besitzt. Die Struktur dieses bekannten Verbundmaterials ist ferner makroskopisch grob, was praktisch zu einem heterogenen Durchwachsen durch Gewebe und zu einer nur unvollkommenen Funktion einer entsprechenden implantierten Prothese führt, beispielsweise zu Undichtigkeiten bei Prothesen von Röhrenorganen, die auf der übermäßigen Porosität ihrer Wandungen beruhen. Die Herstellung von dünnen

Folien oder Belägen beispielsweise auf textilen Unterlagen ist nach dieser Verfahrensweise praktisch unmöglich. Insbesondere aufgrund dieser auf der Verfahrensweise beruhenden Schwierigkeiten konnten sich diese an sich attraktiven Materialien nicht über den Rahmen von Tierversuchen hinaus praktisch durchsetzen.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein polymeres Verbundmaterial anzugeben, das einfach herzustellen ist, eine leichte Formgebung erlaubt, die erforderliche Homogenität aufweist und sowohl in Form von Folien bzw Beschichtungen auf beliebigen Unterlagen als auch in armierter Form herstellbar ist, wobei auch eine entsprechend geeignete Verfahrensweise zur Herstellung dieser Materialien angegeben werden soll.

Die Aufgabe wird anspruchsgemäß gelöst.

Die erfindungsgemäßen polymeren Verbundmaterialien sind frei von den Nachteilen herkömmlicher polymerer Verbundmaterialien.

Die erfindungsgemäßen polymeren Verbundmaterialien bestehen aus 1 bis 99 Gew.-% eines hydrophilen Polymers oder Copolymers, insbesondere auf der Basis von Acrylaten und/oder Methacrylaten, 1 bis 99 Gew.-% fibrillärem Kollagen und 0 bis 2,5 Gew.-% eines Vernetzungsmittels, bezogen auf das Trockengewicht der beiden polymeren Komponenten, sowie gegebenenfalls

aus einer biologisch aktiven Substanz und Hilfsstoffen wie etwa Weichmachern und Füllstoffen; die erfindungsgemäßen polymeren Verbundmaterialien werden durch Dispergierung von fibrillärem Kollagen in Lösung oder in einer starkgequollenen Dispersion des synthetischen hydrophilen Polymers oder Copolymers in einem lyotropen Reagens und anschließende Abtrennung des lyotropen Reagens hergestellt.

Das erfindungsgemäße Verfahren beruht wesentlich darauf, daß das fibrilläre Kollagen in Lösung oder in hoch gequollener Dispersion des synthetischen hydrophilen Polymers oder Copolymers in einem lyotropen Reagens dispergiert wird, das unter mit Wasser verdünnten Carbonsäuren, wäßrigen, stark angesäuerten Gemischen von Äthanol und Methanol (pH 2 bis 3) und hochkonzentrierten wäßrigen Lösungen von Harnstoff oder Guanidiniumchlorid unter Rühren bei Temperaturen unterhalb 37 °C ausgewählt wird, und danach das Lösungsmittel aus der viskosen Dispersion auf bekannte Weise bei Temperaturen von höchstens 37 °C abgetrennt wird, wobei eine Matrix aus dem synthetischen Polymer oder Copolymer, die von fibrillärem Kollagen durchsetzt ist, oder eine Matrix aus fibrillärem Kollagen, die mit dem synthetischen Polymer oder Copolymer durchsetzt ist, entsteht.

Ein weiteres Kennzeichen der Erfindung besteht darin, daß gegebenenfalls während der Herstellung der Dispersion oder auch nach der Abtrennung des lyotropen Reagens ein Vernetzungsmittel zugegeben wird, das unter Trimethylolharnstoff, Formaldehyd,

Acetaldehyd, Glutaraldehyd, Dialdehydstärke, Glyoxal und Chrom(III)salzen ausgewählt wird; das Vernetzungsmittel wird in einer Menge von maximal 2,5 Gew.-%, bezogen auf die Gesamtmenge des synthetischen Polymers oder Copolymers und des Kollagens, zugesetzt.

Während der Herstellung der Dispersion oder auch erst nach der Abtrennung des lyotropen Reagens können ferner biologisch aktive Stoffe sowie gegebenenfalls Füllstoffe, Weichmacher und andere Additive zugesetzt werden.

Das erfindungsgemäße Verfahren ist gekennzeichnet durch

- (a) getrennte Herstellung des synthetischen hydrophilen Polymers oder Copolymers, insbesondere auf der Basis von Acrylaten und/oder Methacrylaten,
- (b) Dispergierung des fibrillären Kollagens in einer Lösung oder einer hoch gequollenen Dispersion des synthetischen Polymers oder Copolymers gemäß (a) mit Hilfe eines Lösungsmittels, das gegenüber beiden vorliegenden polymeren Komponenten eine starke solvatisierende Wirkung aufweist und ihre gegenseitige Mischbarkeit in dispergierter oder gelöster Form ermöglicht,
- (c) Abtrennung des Lösungsmittels aus der viskosen Dispersion gemäß (b) unter Entstehung einer Matrix des synthetischen Polymers oder Copolymers, die von fibrillärem Kollagen durchsetzt ist, bzw gegebenenfalls einer Matrix von fibrillärem Kollagen,

die vom synthetischen Polymer oder Copolymer durchsetzt ist,

- (d) gegebenenfalls Verwendung von an sich bekannten Vernetzungsmitteln, die zu einer intermolekularen Vernetzung der beiden Komponenten des Verbundmaterials führen, wobei das Vernetzungsmittel dem System entweder während der Herstellung der Dispersion im Schritt (b) oder erst nach der Abtrennung des Lösungsmittels gemäß Schritt (c) zugesetzt werden kann,
- (e) gegebenenfalls Verwendung von Additiven und/oder Hilfsstoffen wie zB Heilmitteln, pharmazeutischen Wirkstoffen oder anderen biologisch aktiven Substanzen, Weichmachern, Füllstoffen oder anderen Zusätzen, die dem System in einem beliebigen Stadium des Herstellungsverfahrens, dh in einem beliebigen der oben angeführten Verfahrensschritte, zugesetzt werden können,
- (f) gegebenenfalls Verwendung einer geeigneten Unterlage oder einer geeigneten Bewehrung oder Armierung, auf die die viskosen Dispersionen, die unter (b) angeführt sind, <sup>nach</sup> bekannten Verfahren aufgetragen werden, worauf das Lösungsmittel wie unter (c) abgetrennt wird,  
und
- (g) gegebenenfalls Sterilisation des resultierenden, in einer geeigneten Umhüllung eingeschlossenen Produkts, insbesondere durch Bestrahlung.

Das erfindungsgemäße Verfahren vermeidet die genannten Nachteile der bisherigen Verfahren und führt zu Produkten, die in wesentlich breiterem Maße praktisch anwendbar sind und zudem auch einige neue, von den Eigenschaften der bisher bekannten polymeren Verbundmaterialien abweichende morphologische und biologische Eigenschaften aufweisen.

Durch das erfindungsgemäße Verfahren sind zahlreiche polymere Verbundmaterialien für die verschiedensten biologischen und medizinischen Verwendungszwecke zugänglich.

Die erfindungsgemäßen Materialien sind durch einen gegenüber dem Stand der Technik vollkommeneren Kontakt der beiden beteiligten Polymerkomponenten gekennzeichnet, der zu ihrer mikroskopisch feinen Struktur und den günstigen biologischen Eigenschaften führt.

Die Herstellung der erfindungsgemäß verwendeten hydrophilen Polymere und Copolymere auf der Basis insbesondere von Acrylsäure- und Methacrylsäureestern ist insbesondere aus den DE-PSen 1 720 384 und 2 009 296 sowie den US-PSen 3 988 305 und 4 076 921 bekannt.

Beispiele für erfindungsgemäß geeignete hydrophile Polymere sind insbesondere Poly(2-hydroxyäthylmethacrylate), Poly(2-hydroxyäthylacrylate), Poly(5-hydroxy-3-oxapentylmethacrylate), Poly(4-hydroxybutylmethacrylate) und Poly(4-hydroxybutylacrylate).

Erfindungsgemäß geeignete hydrophile Copolymere sind insbesondere Copolymere von 2-Hydroxyäthylmethacrylat und/oder 2-Hydroxyäthylacrylat mit folgenden Monomeren: Methylmethacrylat, Butylacrylat, 2-Äthoxyäthylmethacrylat, 2-Butoxyäthylacrylat, 4-Hydroxybutylmethacrylat und 4-Hydroxybutylacrylat.

Erfindungsgemäß kann das synthetische hydrophile Polymer oder Copolymer ferner auch im Gemisch mit Gel-Mikropartikeln verwendet werden, die üblicherweise eine Teilchengröße von etwa 0,5 bis 10  $\mu\text{m}$  besitzen. Derartige Gel-Mikropartikel wirken im System als aktive und zugleich physiologisch unbedenkliche Füllstoffe, wobei die aus solchen Zusammensetzungen hergestellten Matrices eine höhere Festigkeit im feuchten Zustand aufweisen. Diese Materialien können nach dem Verfahren gemäß dem <sup>CS-</sup>Urheberschein 153765 (PV 7234-71) hergestellt werden.

Als Quelle für Kollageneiweiß können erfindungsgemäß vorteilhaft Leimleder verwendet werden, die durch alkalische oder saure Quellung und weitere Verarbeitungsverfahren, die zB. in der Industrie zur Herstellung von synthetischen Därmen herangezogen werden, in Form viskoser Massen aufbereitet werden, deren Eigenschaften hinreichend bekannt sind. Vorteilhaft können ferner auch Kollagenmaterialien verwendet werden, die durch bekannte Reinigungsverfahren von sämtlichen Ballaststoffen, insbesondere fremden Eiweißstoffen, und löslichen oder abgebauten Bruchstücken von Kollageneiweißstoffen befreit wurden. Dieses reine Material besteht

im wesentlichen aus unlöslichen Fibrillen und weist eine ungewöhnlich niedrige Antigenwirkung sowie hohe Beständigkeit gegenüber üblichen proteolytischen Enzymen auf und eignet sich deshalb vorteilhaft zur Herstellung von zur Implantation in lebende Organismen bestimmten Materialien.

Erfindungsgemäß können für einige Verwendungszwecke, beispielsweise für Unterlagen zur Kultivierung von Zell- oder Gewebekulturen, auch lösliche Typen von fibrillärem Kollagen einzeln oder im Gemisch verwendet werden.

Für die Herstellung der Dispersionen des fibrillären Kollagens in Gegenwart des synthetischen hydrophilen Polymers oder Copolymers werden bekannte lyotrope Reagentien verwendet, insbesondere verdünnte wäßrige Carbonsäurelösungen, beispielsweise Lösungen von Essigsäure, Malonsäure, ~~Maleinsäure~~ oder Milchsäure, stark saure wäßrige Lösungen (pH 2 bis 3, beispielsweise mit Essigsäure oder Salzsäure) von Methanol und/oder Äthanol, hochkonzentrierte wäßrige Lösungen von lyotropen Salzen wie zB Zinkchlorid, Alkalirhodaniden oder Ammoniumrhodanid (Thiocyanaten) oder Magnesiumperchlorat sowie hochkonzentrierte wäßrige Lösungen von Harnstoff oder Guanidiniumchlorid.

nachträglich  
geändert

Die oben angeführten lyotropen Reagentien sind in der Lage, das fibrilläre Kollagen stark zu quellen und gegebenenfalls zu lösen; sie lösen ferner auch die angegebenen synthetischen hydrophilen Polymeren bzw Copolymeren.



Die Temperatur darf bei diesem Verfahrensschritt sowie auch bei den übrigen Verfahrensschritten in Gegenwart von fibrillärem Kollagen 35 bis 37 °C nicht überschreiten, da sonst irreversible Denaturierung des Kollageneiweißes auftritt.

Die eigentliche Dispergierung des fibrillären Kollagens in der Lösung des synthetischen Polymers bzw Copolymers bzw umgekehrt die Dispergierung des synthetischen Polymers bzw Copolymers im fibrillären Kollagen wird nach an sich bekannten Verfahren, beispielsweise durch intensives Rühren oder mit einem Ultraschalldesintegrator, in einem Energiebereich durchgeführt, bei dem es noch nicht zu einem relevanten Polymerabbau im Netzwerk kommt. Hierbei wird vorteilhaft Abkühlung angewandt.

Der Gehalt an fibrillärem Kollagen kann erfindungsgemäß in weiten Grenzen von 1 bis 99 Gew.-%, bezogen auf das gesamte Trockengewicht der beiden polymeren Bestandteile des Verbundmaterials, gewählt werden. Die eigentliche Zusammensetzung richtet sich in der Praxis nach der jeweils angestrebten biologischen oder medizinischen Verwendung. So wurde beispielsweise bei Verwendung eines Verbundmaterials mit 1 Gew.-% fibrillärem Kollagen in Poly(2-hydroxyäthylmethacrylat), dessen Eigenschaften bekannt sind, als Kultivierungssubstrat in vitro festgestellt, daß es hierbei noch zur Festsetzung einer gemischten Kultur von Myoblasten und Fibroblasten und zu ihrem weiteren Wachstum kommt, wogegen das synthetische Polymer selbst, obgleich es völlig untoxisch ist, diese Eigenschaften nicht aufweist. Die obere Grenze ist

praktisch durch die Bindungsfähigkeit mit dem verwendeten synthetischen hydrophilen Polymer bzw Copolymer beschränkt, die sich zumeist schon ab 1 Gew.-% dieser Verbundkomponente äußert.

Für jeden speziellen Anwendungszweck existiert ein bestimmtes, optimales Verhältnis der beiden im Verbundmaterial vorliegenden polymeren Komponenten, wobei auch ein gewisser Bereich für den wechselseitigen Ersatz besteht, um ganz bestimmte, vorgegebene biologische Eigenschaften beim resultierenden Verbundmaterial zu erzielen.

Zur Abtrennung des Lösungsmittels aus dem viskosen Dispersionssystem können bekannte Verfahren verwendet werden, insbesondere

- (a) einfaches Abdampfen bei Temperaturen  $\leq 37^{\circ}\text{C}$ , in der Regel bei Raumtemperatur;
- (b) Abdampfen im Vakuum bei Temperaturen  $\leq 37^{\circ}\text{C}$ ;
- (c) Gefriertrocknung im Vakuum (Lyophilisierung);
- (d) Extraktion der gefrorenen Dispersion in festem Zustand mit Reagentien, die das Kollagen nicht lösen, jedoch mit Wasser unbegrenzt mischbar sind, beispielsweise mit Aceton oder Isopropanol, und zwar nach vorhergehender wechselseitiger Vernetzung der beiden polymeren Bestandteile, beispielsweise mit der Dispersion zugesetztem Glutaraldehyd, und anschließendes Abdampfen dieser Lösungsmittel nach (a) oder (b) wie oben;

- (e) Fällung in Wasser, wobei bei Dispersionen mit saurer Reaktion die Zugabe eines Neutralisationsreagens, zB von wäßrigem Ammoniak, erforderlich ist, und Trocknen der gequollenen Materialien auf beliebige Weise, zB gemäß (a) oder (b);
- (f) Fällung in konzentrierten Salzlösungen, zB Lösungen von Chloriden oder Sulfaten, zumeist in Natriumchlorid- oder Ammoniumsulfatlösungen, wobei bei sauren Dispersionen wiederum in Gegenwart von Neutralisationsreagentien, zumeist in Gegenwart von wäßrigem Ammoniak, <sup>wird</sup>verfahren/und die anhaftenden Salze mit Wasser ausgewaschen werden, worauf schließlich wie in (e) getrocknet wird.

Die Verfahren (a) bis (d) sind für flüchtige, gegebenenfalls (vgl (d)) extrahierbare Lösungsmittel geeignet.

Die Verfahren (e) und (f) eignen sich für alle Arten der oben angegebenen Dispersionen; für die mit Hilfe von lyotropen Salzen hergestellten Dispersionen stellen sie vorteilhafte bzw die einzig möglichen Verfahren zur Abtrennung des Lösungsmittels dar. Jedes der angegebenen Verfahren zur Abtrennung des Lösungsmittels führt in gewissem Maße zu unterschiedlichen Ergebnissen, insbesondere hinsichtlich der Struktur der resultierenden Materialien: Das Verfahren (a) ergibt keine porösen Filme oder Schichten; Verfahren (b) führt zu einer grob porösen Struktur innerhalb der Schichten und zu einer praktisch nicht porösen äußeren Hülle (Sandwichtyp);

die Verfahren (c) und (d) ergeben elastische, poröse Schäume mit miteinander in Verbindung stehenden Poren; die Verfahren (e) und (f) ergeben schließlich faserförmige Materialien mit filzartiger Struktur. Die zur Abtrennung des Lösungsmittels gewählte Verfahrensweise stellt folglich einen wesentlichen Verfahrensparameter dar, mit dem die morphologischen Eigenschaften des resultierenden Verbundmaterials eingestellt werden können.

Zur Stabilisierung der erfindungsgemäßen Zusammensetzungen, insbesondere zur Einstellung der Resorptionsgeschwindigkeit der Kollagenfibrillen nach Implantation des Materials in lebende Organismen, können erfindungsgemäß bekannte Vernetzungsmittel für Kollagen eingesetzt werden. Die meisten dieser Vernetzungsmittel, beispielsweise Formaldehyd, Glutaraldehyd, Glyoxal, Chrom(III)salze und andere, vernetzen zugleich auch das synthetische hydrophile Polymer bzw Copolymer durch Umsetzung mit den zugänglichen Hydroxylgruppen in den Seitenketten dieser Polymeren. Hierbei kommt es zu einer gegenseitigen intermolekularen Vernetzung der beiden polymeren Komponenten des Verbundmaterials, was zu erhöhter chemischer wie auch biologischer Stabilität führt. Die angegebenen Vernetzungsmittel, die zumeist in Form von wäßrigen Lösungen mit einer Konzentration von beispielsweise 0,05 bis 2,5 Gew.-% verwendet werden, können dem zur Herstellung des Verbundmaterials dienenden System entweder während der Herstellung der viskosen Dispersion oder auch erst nach der Abtrennung des Lösungsmittels zugegeben werden, wobei durch Wahl der Konzentration des Vernetzungsmittels und der Einwirkungsdauer auf die Polymerkomponenten des

Verbundsystems der Vernetzungsgrad eingestellt werden kann. Überschüssiges Vernetzungsmittel muß aus dem resultierenden Produkt abgetrennt werden, was zumeist durch Waschen mit destilliertem Wasser erfolgen kann. Außer den angegebenen Vernetzungsmitteln können erfindungsgemäß auch andere bekannte Vernetzungsmittel für Kollagen eingesetzt werden, beispielsweise Trimethylolharnstoff, Acetaldehyd, Glycerinaldehyd oder etwa Dialdehydstärke (Oxistarch).

Außer den oben angegebenen Substanzen können erfindungsgemäß in jeder beliebigen Verfahrensstufe bei der Herstellung des Verbundmaterials auch andere Stoffe wie etwa Heilmittel oder andere biologisch aktive Verbindungen eingesetzt werden, beispielsweise Breitpektrumsantibiotika mit lokaler Wirkung wie etwa Neomycin, Gentamycin udgl und gegebenenfalls geeignete Kombinationen solcher Wirkstoffe, wobei diese Verbindungen im Verbundmaterial frei und/oder an die Polymermatrix chemisch oder durch ionische Wechselwirkung gebunden vorliegen können. Im Rahmen der Erfindung können ferner auch Substanzen mit Antikoagulations- und gegebenenfalls Antiaggregationswirksamkeit wie etwa Heparin, Evansblau udgl, Substanzen mit entzündungshemmender Wirkung wie zB Lokalcorticoide, Substanzen, die Heilungs- oder Wiederherstellungsvorgänge im Organismus unterstützen, sowie auch Substanzen mit Antikonzeptionswirkung udgl verwendet werden.

Im Fall von Produkten für äußerliche Behandlung, beispielsweise von Verbänden, Masken und provisorischen

Abdeckmaterialien etwa für Wund- oder Brandwundenflächen, können die biologisch aktiven Substanzen auch äußerlich, dh erst nach Aufbringen des in geeigneter Weise ausgewählten Verbundmaterials auf die verletzte Stelle, appliziert werden; ferner kann hierbei jederzeit die erforderliche Wirkstoffmenge ergänzt werden, da aufgrund des hydrophilen Charakters des erfindungsgemäßen Verbundmaterials Permeabilität für die Wirkstoffe vorliegt. Die porösen erfindungsgemäßen Materialien sind ferner auch für makromolekulare Substanzen frei durchlässig, insbesondere in wäßrigen Lösungen.

Als weitere geeignete Additive können auch äußere Weichmacher eingesetzt werden, sofern sie physiologisch unbedenklich sind, beispielsweise Glycerin, Polyoxirane (insbesondere mit einem Molekulargewicht von 400 und 600), Glycerinmonoacetat und Glycerindiacetat (Isomerengemisch) sowie ihre Gemische; derartige Zusätze eignen sich insbesondere für den Einsatz des erfindungsgemäßen Verbundmaterials bei der äußerlichen Behandlung, für die biegsame und geschmeidige Materialien gebraucht werden.

Die erfindungsgemäßen Verbundmaterialien können entweder als solche und/oder vorteilhaft auch nach Auftragen auf geeigneten Unterlagen oder Armierungsmaterialien verwendet werden, beispielsweise unter Verwendung von röhrenförmigen Materialien, gewebten Netzen aus physiologisch unbedenklichen Materialien wie etwa Polyäthylenterephthalatfasern, sowie etwa auf Kultivierschalen aus Glas oder Kunststoff, die für Zell- oder Gewebekulturen <sup>sowie</sup> gegebenenfalls in der Mikrobiologie eingesetzt werden. Ferner können auch ungewebte Textilma-

terialien, Veloure, Papier, regenerierte Cellulose, zB Cellophan, oder auch Unterlagen aus physiologisch unbedenklichen synthetischen Polymeren oder Copolymeren sowie etwa aus Metallen, beispielsweise in Form von Folien, Netzen, Filzen udgl, verwendet werden. Das eigentliche Verbundmaterial kann dabei unterschiedliche Struktur (monolithische, mikroporöse, makroporöse, sandwich-artige oder etwa faserartige Struktur) aufweisen und auf diese Unterlagen in beliebiger Dicke aufgetragen werden.

Die Sterilisierung des erfindungsgemäßen Verbundmaterials kann im Hinblick auf den Gehalt an einer Komponente mit Eiweißcharakter, dh das Kollagen, ohne Schädigung praktisch nur durch Bestrahlung, etwa mit einem Elektronen-Linearbeschleuniger bzw. durch  $\beta$ -Strahlung oder durch  $\gamma$ -Strahlung, zB aus einer  $^{60}\text{Co}$ -Quelle durchgeführt werden.

Die ausreichende Strahlungsdosis beträgt in den genannten Fällen 2 bis 2,5 Mrad, wobei es dann nur zu minimalen Veränderungen im bestrahlten Material kommt, insbesondere, wenn dieses in wasserfreiem Zustand vorliegt. Die Sterilisation wird in der Praxis in einer geeigneten Schutzumhüllung, beispielsweise in einer hermetisch geschlossenen doppelten Polyäthylenfolie, durchgeführt. Die Sterilisation mit Hilfe von Oxiranverbindungen ist wegen der möglichen chemischen Umsetzungen des Materials sowie der toxischen Wirkung von Resten oder Addukten solcher Sterilisationsreagentien nicht empfehlenswert.

Die folgenden Beispiele erläutern die Erfindung, ohne sie einzuschränken. Unter Kollagen ist in allen Beispielen das unlösliche fibrilläre Präparat zu verstehen, das nach dem EDTA-Verfahren nach F.S. Steven, Methodology of Connective Tissue Research, Chapter 4, page 19-27, Ed. D.A. Hall, Oxford 1976, gewonnen wurde. Als Ausgangsrohstoff diente Rindsleder.

#### Beispiel 1

Durch Lösungspolymerisation von 2-Hydroxyäthylmethacrylat nach der DE-PS 1 720 384 (10 Gew.-% Monomer mit einem Gehalt von 0,28 Gew.-% Diester) in einem Äthanol-Wasser-Gemisch (Volumverhältnis 2:1) während 9 h bei 80 °C unter einer Inertatmosphäre von CO<sub>2</sub> in Gegenwart von Dibenzoylperoxid als Initiator der radikalischen Polymerisation wurde Poly(2-hydroxyäthylmethacrylat) bis zu einem Umsatz von 78 % hergestellt. Das Produkt wurde anschließend gereinigt und durch Umfällung in einem großen Überschuß destilliertem Wasser (etwa 10-faches Volumen) isoliert und nach Trocknen bei Raumtemperatur in einer Labormühle aus nicht rostendem Stahl zu einem feinen Pulver vermahlen.

$$\bar{M}_w = 8,7 \cdot 10^5; \eta' = 0,75; [\eta] = 1,25 \text{ dl} \cdot \text{g}^{-1}.$$

Die Vorratslösung des Polymers (Trockenrest 10 Gew.-%) wurde mit einem aus 1 Volumteil Eisessig (99 %, p.a.) und 2 Volumteilen destilliertem Wasser bestehenden Lösungsmittel hergestellt.



Das Kollagen wurde in Form einer Dispersion in 1-%iger Essigsäure (Trockenrest 2 Gew.-%) im Kühlschrank bei 4 °C aufbewahrt; unmittelbar vor der Verwendung wurde die Essigsäurekonzentration durch Zugabe einer berechneten Menge an Eisessig unter intensivem Rühren in einem Mixer auf 33 Gew.-% eingestellt. Zu der entstandenen Dispersion des Kollagens wurde die berechnete Menge der Vorratslösung des Poly(2-hydroxyäthylmethacrylats) zugegeben, so daß ein Gemisch der beiden Polymerkomponenten im geforderten Gewichtsverhältnis (1 bis 99 Gew.-% fibrilläres Kollagen) entstand.

Die entsprechenden Verbundmaterialdispersionen wurden in einer staubfreien Box auf die Innenfläche von Petrischalen aus Kunststoff aufgetragen; durch Abdampfen des Lösungsmittels bei Raumtemperatur wurde ein dünner Film des Verbundmaterials gewonnen, das anschließend 24 h mit 0,1-%igem wäßrigem Glutaraldehyd vernetzt wurde.

Nach dem Trocknen der fixierten Filme bei Raumtemperatur wurden die Petrischalen in doppelte Polyäthylenbeutel eingeschweißt und mit einem Elektronen-Linearbeschleuniger bei einer Bestrahlungsdosis von 2,5 Mrad sterilisiert.

Die primären biologischen Eigenschaften des erhaltenen Verbundmaterials wurden anhand von Gewebekulturen in vitro (primäre Mischkultur von Myoblasten und Fibroblasten) getestet. In allen Fällen ergab sich, daß diese Materialien nicht cytotoxisch sind, das Anhaften der Zellen an der Unterlage sowie ihr weiteres Wachstum ermöglichen.

und eine Zelldifferenzierung erlauben, wogegen das unter den gleichen Bedingungen verwendete synthetische Polymer allein zwar nicht cytotoxisch war, jedoch weder das Anhaften der Zellen an der Unterlage noch ihr weiteres Wachstum ermöglichte.

### Beispiel 2

Aus gereinigtem 2-Hydroxyäthylmethacrylat mit einem Gehalt von 0,03 Gew.-% Äthylendimethacrylat wurde durch Lösungspolymerisation in 96-%igem Äthanol bei der Siedetemperatur am Rückfluß und unter Inertatmosphäre Poly(2-hydroxyäthylmethacrylat) hergestellt. Das als Ausgangsmaterial eingesetzte Polymerisationsgemisch enthielt 85 Vol.-% Äthanol, 15 Vol.-% Monomer und 0,2 Gew.-% Dibenzoylperoxid, bezogen auf das Monomer; die Polymerisationsdauer betrug 10 h, bis der Umsatz 85 % erreicht hatte.

Das Polymer wurde dann in überschüssigem Wasser ausgefällt und bei 40 °C im Wasserstrahlpumpenvakuum getrocknet.

$$\bar{M}_w = 2,3 \cdot 10^5; g' = 0,62; [\eta] = 0,89 \text{ dl} \cdot \text{g}^{-1}.$$

Die weitere Verfahrensweise war wie in Beispiel 1. Es wurde ein polymeres Verbundmaterial mit ähnlichen Eigenschaften wie in Beispiel 1 gewonnen.

Bei der Herstellung der Dispersion des fibrillären Kollagens war die niedere Viskosität der Vorratslösung

des Poly(2-hydroxyäthylmethacrylats) insofern vorteilhaft, als sie die Dispergierung des Kollagens erleichterte.

### Beispiel 3

Poly(5-hydroxy-3-oxapentylmethacrylat) in Pulverform (Korngröße 0,5 bis 10  $\mu\text{m}$ ) wurde durch Fällungspolymerisation des entsprechenden Monomers (Diestergehalt 0,83 Gew.-%) in Toluol nach dem Verfahren der US-PS 3 988 305 hergestellt und in 25-vol-%igem wäßrigem Äthanol zu einer viskosen Lösung (Trockenrest 10 Gew.-%) gelöst.

Die Lösung (Gehalt 2,4 Gew.-%) wurde in einem Mixer innerhalb von 2 min in eine gekühlte Kollagen-dispersion (8 Gew.-Teile) in 25-vol-%igem wäßrigem Äthanol (Trockenrest 2 Gew.-%) eingemischt und durch Zugabe von konzentrierter Salzsäure (p.a.) auf pH 3 angesäuert. Zu der entstandenen viskosen Dispersion wurde unter Rühren eine 25 %ige wäßrige Glutaraldehyd-lösung zugegeben (Merck, 0,04 Gew.-%).

Das Gemisch wurde auf eine Schale aus Polyvinylchlorid ohne Weichmacher aufgegossen; die Schale wurde anschließend in ein größeres, dicht schließendes Gefäß gebracht, worauf bei Raumtemperatur im Wasserstrahlpumpenvakuum alle flüchtigen Bestandteile des Verbundmaterials entfernt wurden und ein elastischer, poröser Schaum mit zusammenhängender äußerer Schicht (Sandwichstruktur) mit einem Gehalt von 40 Gew.-% fibrillärem Kollagen erhalten

wurde.

Nach gründlichem Waschen mit destilliertem Wasser und anschließendem Trocknen im Vakuum bei Raumtemperatur wurde eine 5 mm dicke Verbundmaterialschiicht mit der angegebenen Morphologie erhalten, die nach Sterilisation in einem Polyäthylenbeutel durch Bestrahlung (Bestrahlungsdosis 2,5 Mrad) beispielsweise zur Abdeckung von Wundflächen (Brandwunden 2. und 3. Grades) geeignet war. Es war ferner möglich, lokal wirksame Heilmittel, zB wäßrige Lösungen von Antibiotika, zu applizieren.

#### Beispiel 4

Durch Fällungspolymerisation von 2-Hydroxyäthylmethacrylat (10 Gew.-% Monomer mit einem Gehalt von 0,28 Gew.-% Diester) in Äthylacetat (p.a.) wurde nach dem Verfahren der US-PS 4 076 921 eine polymere Masse mit einem Gehalt von 35 Gew.-% Gel-Mikroteilchen hergestellt.

Polymerisationsbedingungen: Temperatur 65 °C, Polymerisationsdauer 2,5 h, Polymerisation unter Stickstoff als Inertatmosphäre, Umsatz 96,5 %, 2.2'-Azobisisobutyronitril als Initiator der radikalischen Polymerisation 0,3 Gew.-%, bezogen auf das Monomer.

Das polymere Produkt wurde abfiltriert, mit einer kleinen Menge Äthylacetat gewaschen und danach im Vakuum zu einem feinen Pulver getrocknet.

Aus diesem Polymermaterial wurde eine Dispersion mit 10 Gew.-% Trockenrest in 1 M  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$  hergestellt, wobei der lösliche Bestandteil des Polymerisats die viskose Lösung bildete, in der die feinen Gel-Mikroteilchen (Teilchengröße 1 bis 1,5  $\mu\text{m}$ ) in stark gequollenem Zustand dispergiert wurden. 1,5 Gew.-Teile der obigen Dispersion wurden in einem Mixer mit einer Dispersion (10 Gew.-Teile) von fibrillärem Kollagen (3 Gew.-% Trockenrest) in 1 M  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ -Lösung eingemischt, die zuvor auf 4 °C abgekühlt worden war.

Die viskose Dispersion wurde unter vermindertem Druck entgast und dann auf ein flaches Polyäthylenterephthalatnetz aufgetragen, das in eine Schale aus Polyvinylchlorid eingebracht wurde. Das Netz mit der daran anhaftenden Dispersion wurde in überschüssige, 25-gew.-%ige wäßrige NaCl-Lösung eingetaucht, in der ein faserförmiger Niederschlag koagulierte, der das Netz allseitig bedeckte. Die Abtrennung der anhaftenden Salze wurde durch Eintauchen in fließendes kaltes Wasser sowie ferner durch Extraktion mit destilliertem Wasser durchgeführt. In das letzte Waschwasser wurden Glycerin (p.a., 5 Gew.-%) und Neomycin (0,2 Gew.-%) zugegeben. Das Material wurde 6 h bei 4 °C (im Kühlschrank) in diesem Bad belassen, das anschließend weggegossen wurde; das Wasser wurde aus <sup>dem</sup> Verbundmaterial im Wasserstrahlpumpenvakuum bei Raumtemperatur abgetrennt.

Es wurde ein geschmeidiges Verbundmaterial (Maske) erhalten, das nach Sterilisation durch Bestrahlung zur Abdeckung eitriger Wunden sowie zur oberflächlichen Ver-

wendung auf der Haut geeignet war, da es neben der antimikrobiellen Wirkung hohes Saugvermögen aufwies.

#### Beispiel 5

Es wurde wie in Beispiel 4 verfahren, wobei jedoch als Lösungsmittel eine 1 M Natriumrhodanidlösung in Wasser verwendet wurde. Als äußerer Weichmacher wurde Glycerinacetat (Gemisch aus 1.2- und 1.3-Isomeren, 5 Gew.-%) verwendet.

Es wurden ähnliche Resultate wie in Beispiel 4 erzielt.

#### Beispiel 6

Durch Lösungspolymerisation nach der DE-PS 2 009 296 wurde ein hydrophiles Copolymer hergestellt, das 70 Gew.-% 2-Hydroxyäthylmethacrylateinheiten und 30 Gew.-% Butylacrylateinheiten enthielt.

Polymerisationsbedingungen: Lösungsmittel Dimethylsulfoxid (DMSO), Konzentration des Monomergemischs 10 Gew.-%, Initiator 0,25 Gew.-% Dibenzoylperoxid, bezogen auf das Monomergemisch, Temperatur 80 °C, Polymerisationsdauer 7 h unter CO<sub>2</sub>-Atmosphäre, Umsatz 83 %.

Das polymere Produkt wurde in Wasser ausgefällt und durch Umfällung aus Dimethylsulfoxidlösung in überschüssigem Wasser (5 Gew.-%) gereinigt. Das getrocknete

Polymerisat besaß eine Erweichungstemperatur von 19 °C und quoll in Wasser zu einem Wassergehalt von 26 Gew.-% auf. Aus diesem Material wurde eine Vorratslösung (Trockenrest 10 Gew.-%) durch Lösen in wäßriger Essigsäure (33 Gew.-%) hergestellt.

Nach dem Verfahren von Beispiel 1 wurden Dispersionen hergestellt, die 20 und 80 Gew.-% fibrilläres Kollagen enthielten und ohne Zugabe eines Vernetzungsmittels durch Gefriertrocknung (Lyophilisierung) zu einem elastischen, porösen Schaum (Dicke 3 mm) verarbeitet wurden, der zur Abdeckung von Wunden auf der Körperoberfläche geeignet war, da das Material bei Temperaturen gegen 37 °C ausreichend geschmeidig ist.

Die Sterilisation erfolgte durch Bestrahlung ( $\gamma$ -Strahlung,  $^{60}\text{Co}$ , Bestrahlungsdosis 2,2 Mrad).

Das Material konnte nachträglich mit wäßrigen Lösungen von Heilmitteln kombiniert werden, da seine Porosität trotz der verringerten Hydrophilität der synthetischen Matrix eine freie Permeation zuließ. Für das Eindringen von Bakterien von außen stellte dieses Verbundmaterial eine ausreichende Barriere dar; es eignete sich deshalb zur Verwendung bei der äußerlichen Behandlung.

#### Beispiel 7

Ähnliche Ergebnisse wurden mit einem Copolymer aus

75 Gew.-% 2-Hydroxyäthylmethacrylateinheiten und 25 Gew.-% 2-Äthoxyäthylmethacrylateinheiten erzielt, das eine deutlich höhere Hydrophilie bei etwa gleichen elastischen Eigenschaften in trockenem Zustand aufwies.

#### Beispiel 8

Das als Ausgangsmaterial verwendete Copolymer nach Beispiel 6 wurde in 6 M Harnstofflösung bei Raumtemperatur (18 bis 23 °C) zu einer viskosen Lösung (Trockenrest des Copolymers 10 Gew.-%) gelöst. Zu dieser Lösung (3 Gew.-Teile) wurde bei 4 °C eine Dispersion von Kollagen (10 Gew.-Teile) in 6 M Harnstofflösung (Trockenrest 3 Gew.-%) zugemischt; die Lösung wurde durch eine ringförmige Schlitzdüse in ein Koagulationsbad eingedrückt, das aus einer wäßrigen Ammoniumsulfatlösung (20 Gew.-%) bestand.

Die entstandene Röhre aus Verbundmaterial (Innendurchmesser 26 mm, Außendurchmesser 30 mm) wurde außen mit einem Polyäthylenterephthalatgewebe überzogen und nach gründlicher Extraktion der Begleitsubstanzen und Sterilisation durch Bestrahlung ( $^{60}\text{Co}$ , Bestrahlungsdosis 2,2 Mrad) zum experimentellen Ersatz der Speiseröhre (Oesophagus) beim Hund verwendet.

#### Beispiel 9

Es wurde wie in Beispiel 7 verfahren, wobei jedoch



die Dispersion des Kollagens in einer 6 M Guanidiniumchloridlösung hergestellt wurde. Die Dispersion wurde in der Kälte (4 bis 10 °C) durch eine flache Schlitzdüse in ein Koagulationsbad (Wasser, 7 °C, Ammoniakzusatz 0,5 Gew.-%) eingedrückt.

Die entstandene faserförmige Schicht des gequollenen Verbundmaterials wurde in fließendem kaltem Wasser gewaschen, bei Raumtemperatur unter einem Druck von 1,3 kPa getrocknet, in Stücke von 10x10 cm zerschnitten und nach Einschweißen in Polyäthylenfolie durch Bestrahlung ( $^{60}\text{Co}$ , Bestrahlungsdosis 2,2 Mrad) sterilisiert.

Das Verbundmaterial wurde als Träger für Heilmittel (Gemisch von Chloramphenicol und Colinycin, 1 g/80 mg) verwendet, die nachträglich durch Aufquellen der Maske in der Wirkstofflösung appliziert wurden; das Material wurde zur Abdeckung einer Brandwunde verwendet, die bei der Verletzung extern infiziert worden war. Die nachträgliche Dosierung der Antibiotikallösung erfolgte direkt über das als provisorisches Abdeckmaterial verwendete erfindungsgemäße Verbundmaterial.